

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 渡 邊 元 樹

主論文 1 編

Novel MEK inhibitor trametinib and other retinoblastoma gene (RB)-reactivating agents enhance efficacy of 5-fluorouracil on human colon cancer cells.

Cancer Science (掲載予定)

審 査 結 果 の 要 旨

5-fluorouracil (5-FU) は古くから DNA 合成阻害能を持つ抗癌剤として使用されてきており、大腸癌化学療法においては今もなお中心的製剤として位置づけられているが、その薬剤感受性や副作用が問題となっている。5-FU は DNA 合成に必要な酵素である thymidylate synthase (TS) を標的とするが、大腸癌患者を対象とした多くの臨床研究において、TS の高発現と 5-FU 抵抗性との関連が示唆されている。そこで申請者は、TS の発現が転写因子 E2F により活性化されることに着目し、RB 蛋白質の再活性化により E2F の転写活性を抑制することで、TS の発現を下方制御できれば、5-FU の感受性を増強できるのではないかという仮説を考えた。そこで今回、3 種の RB 再活性化剤 trametinib (MEK 阻害剤)、fenofibrate (PPAR α agonist)、及び LY294002 (PI3K 阻害剤) を用いて、ヒト大腸癌細胞株に対する 5-FU 感受性増強効果について検証した。

申請者はまず trametinib の抗腫瘍効果について検証した。WST-8 assay において、trametinib はヒト大腸癌細胞株 HT-29 細胞に対し、濃度依存性に細胞増殖抑制効果を示した。flow cytometry を用いた細胞周期解析では、trametinib による顕著な G1 期停止が認められた。western blotting 法では、trametinib による p15, p27 蛋白質の誘導、cyclin D1 蛋白質の抑制を認め、さらに RB 蛋白質の脱リン酸化とともに TS 蛋白質の発現抑制が認められた。real time RT-PCR にて trametinib による TS mRNA の発現抑制も確認され、trametinib による RB 蛋白質の再活性化が TS の転写抑制に作用していることが示唆された。次に fenofibrate の抗腫瘍効果について検証した。fenofibrate は *in vitro* あるいは *in vivo* の実験において多様な抗腫瘍効果を示すことが既に知られているが、HT-29 細胞に対しては G1 期停止を誘導することを確認した。western blotting 法では、ERK 蛋白質の脱リン酸化とともに cyclin D1 蛋白質の抑制及び RB 蛋白質の脱リン酸化と TS 蛋白質の下方制御が認められた。さらに real time RT-PCR にて fenofibrate による TS mRNA の発現抑制も確認された。第 3 の RB 再活性化剤である LY294002 は HCT15 細胞に対し、G1 期停止の誘導、p27 蛋白質の誘導、RB 蛋白質の脱リン酸化、さらには TS 蛋白質の発現抑制をもたらした。

以上の通り、いずれの薬剤も RB 蛋白質を脱リン酸化し、TS の発現を著明に抑制することが見出された。これらの結果を踏まえて、trametinib、fenofibrate 及び LY294002 の 5-FU 感受性への影響について、flow cytometry による sub-G1 解析及びコロニー形成試験にて検討したところ、いずれの薬剤も 5-FU との併用時において、単剤処理時と比較し、アポトーシス細胞の増加とともにコロニー数の減少が認められた。

以上が本論文の要旨であるが、申請者の提唱する低分子化合物による「RB 再活性化療法」は大腸癌に対する 5-FU を用いた化学療法の効果を増強することが期待できる点で、医学的価値がある研究と認められる。

平成 25 年 4 月 18 日

審査委員 教授 松 田 修 ㊞

審査委員 教授 田 代 啓 ㊞

審査委員 教授 矢 部 千 尋 ㊞